

Kan verdens mest brukte plantevernmiddel Glyfosat gi fosterskader?

Magnus Løstegaard Hagen, Stud. Med.



Litteraturstudium ved medisinske fakultet

UNIVERSITETET I OSLO

Oktober 2014

Veileder: Marit Låg

© Forfatter

År: 2014

Tittel: Kan verdens mest brukte plantevernmiddel Glyfosat gi fosterskader?

Forfatter: Magnus Løstegaard Hagen

<http://www.duo.uio.no/>

Abstract

Background: The broad-spectrum herbicide glyphosate is widely used in agriculture worldwide. There has been ongoing controversy regarding the possible adverse effects of glyphosate on the environment and on human health. In this assignment I have reviewed eight experimental studies regarding the possible teratogen effect of glyphosate to answer my research question: Does glyphosate cause developmental adverse effects in humans?

Methods: I conducted an unsystematic literature search in Pubmed, using predetermined inclusion and exclusion criteria. A total of 8 studies were included, six in vivo studies and two in vitro studies.

Results: All the included studies in different ways show that glyphosate based herbicide cause developmental and reproductive adverse effects. However, experts and scientists disagree on whether the qualities of the studies are good or bad, and the transferability of the observed effects on humans.

Conclusions:

Because of the disagreement between different scientists and the industry a new risk assessment must take into account all the data on the toxicity of glyphosate and its commercial formulations, including data generated by independent scientists and published in the peer-reviewed scientific literature, as well as the industry- sponsored studies.

Innholdsfortegnelse

| | |
|--|------------------|
| <u>INNLEDNING</u> | <u>5</u> |
| GLYFOSAT | 6 |
| GODKJENNING AV PLANTEVERN MIDLER I NORGE OG EU | 7 |
| GRENSEVERDIER I NORGE OG EU | 7 |
| POTENSIELLE MÅTER Å BLI EKSPONERT FOR GLYFOSAT FOR MENNESKER | 8 |
| <u>METODEVALG</u> | <u>9</u> |
| LITTERATURINNSAMLING | 9 |
| SØK | 9 |
| <u>RESULTAT</u> | <u>10</u> |
| IN VIVO STUDIER | 10 |
| IN VITRO STUDIER | 15 |
| <u>DISKUSJON</u> | <u>16</u> |
| <u>LITERATURLISTE</u> | <u>21</u> |

1. Innledning

I media leser vi stadig om negative helseeffekter ved bruk av plantevernmidler, samtidig som økologiske matvarer blir mer og mer populære. I denne oppgaven vil jeg rette søkelyset mot verdens og Norges desidert mest brukte plantevernmiddel Roundup (1) -et glyfosatbasert plantevernmiddel (GBH), med problemstillingen: Kan plantevernmiddelet glyfosat gi fosterskader?

Glyfosat er den aktive ingrediensen i herbicider som Roundup, AquaMaster og Viosion. Stoffet ble første gang godkjent i 1974. Bruken av dette plantevernmiddelet øker stadig på verdensbasis. I 2008 ble den globale produksjonen anslått til å være 620.000 tonn, som representerer en verdi på 8,3 milliarder US\$ (2). Glyfosat er ansett som ufarlig for mennesker og dyr av Mattilsynet i Norge (1). I Casarett & Doulls lærebok i toksikologi står det: "Glyphosate has no teratogenic, developmental or reproductive effects" (3). Samtidig er det flere forskere som hevder at glyfosat forurensrer drikkevannet og er skadelig for mennesker i form av å kunne gi fosterskader (4,5), nyresykdom (6) og kreft (7). Hvordan kan det råde to så forskjellige oppfatninger rundt et plantevernmiddel?

Bruken av glyfosatbaserte plantevernmidler er mer enn tredoblet siden 1992 (8). Mer enn en million tonn glyfosatbasert herbicid sprøytes ut over jordens overflate årlig. I Norge ble det i gjennomsnitt omsatt ca 300 tonn glyfosatpreparater årlig i perioden 2007 – 2011 (1). Per mars 2012 var det 26 godkjente glyfosatpreparater i Norge. Det største bruksområdet her til lands er bekjempelse av kveke i korndyrkning. Middelet brukes også i stor grad som hobbypreparat til hager, men dette utgjør bare ca 1,3 % av totalmengden. Helikoptersprøyting av skog utgjør omtrent en promille av bruken (1).

Grunnen til den store økningen på verdensbasis er bruken av genmodifiserte planter, såkalte GMO (genetically modified organism). Disse plantene får innsatt et gen fra en bakterie som gjør dem motstandsdyktige mot glyfosat. På den måten kan man sprøyte gjentatte ganger slik at alt ugress dør, uten at den genmodifiserte planten tar skade av det. Glyfosat brukes også i stadig større utstrekning til å styre innhøstingstidspunktet. Ved å sprøyte glyfosat i store doser over avlingen, tvangsmodner man avlingen. Planten setter alle sine livskrefter inn på å modnes før den dør. Dette hevder flere forskere fører til større konsentrasjoner i maten enn tidligere.

Hvert år importeres det over 40 millioner tonn soyabønner til EU, mesteparten til bruk som dyrefor. Brorparten av disse bønnene er genmodifiserte Roundupready soyabønner (9). I de senere årene har det vært en økende bekymring og en pågående debatt blant politikere og forskere i hvilken grad glyfosatrester i husdyrfor og i menneskers mat kan føre til uheldige helseeffekter. Det er gjort funn av glyfosatrester i innhøstede soyabønner på opp til 17 mg/kg (10), OECD og EU har økt grensene for konsentrasjonen i genmodifisert soya til 20 mg/kg. I en norsk studie hevder man nylig å ha vist at det skal kun 0,45 mg/liter Roundup til for at vannloppehunner (*Daphnia magna*) aborterer, får redusert vekst og nedsatt fruktbarhet (2). I Norge har man vært og er mer restriktiv med bruk av plantevernmidler enn i land som USA og Brasil, men bruken av glyfosat har økt også i Norge. De siste tjue årene med nesten 300 % i følge Oikos (8).

I Argentina dyrkes det over 19 millioner hektar genmodifisert soya. Det brukes 200 millioner liter GBH for å produsere 50 millioner tonn soyabønner pr år (4). Videre hevdes det at den

intensive og raskt voksende landbruksmodellen basert på GMO-teknologi er tatt i bruk uten kritisk evaluering, streng regulering eller adekvat informasjon om påvirkningen av subletale doser av GBH på menneskers helse og miljøet (4).

De siste årene har det vært en økning i rapportering av kongenitale misdannelser I Córdoba, en by sentralt i Argentina, er det påvist flere tilfeller med malformasjoner i tillegg til økt antall spontanaborter. Området hvor disse funnene er gjort ligger omringet av GMO- basert landbruk. Funnene er konsentrert i familier som lever noen få meter fra åkre der plantevernmiddelet regelmessig sprøytes ut (4).

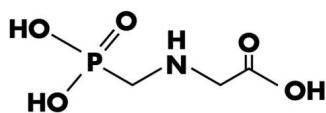
1.1 Glyfosat

Glyfosat er et bredspektret, uselektivt herbicid (3, s. 964), som har sin toksiske virkning på planter gjennom å inhibere enzymet 5-enolpyruvylshikimate-3-fosfat synthase, som er ansvarlig for syntesen av en intermediær komponent i biosyntesen av de aromatiske aminosyrene tryptofan, tyrosin og fenylalanin (3). Resultatet er at proteiner der disse aminosyrene inngår, blir en mangelvare og plantene dør. Dette enzymet finnes i alle planter, sopp og bakterier (1), men ikke i pattedyrceller. Glyfosat absorberes hovedsaklig av plantenes overjordiske deler og spres deretter raskt i planten. Stoffet virker på de fleste en- og tofrøbladede arter.

Glyfosat absorberes hurtig fra mage – tarmkanalen hos rotter, men kun ca 40 % tas opp (11). Den maksimale blodkonsentrasjonen oppnås etter 4 timer. Små mengder fordeles til organer og vev, og de høyeste konsentrasjonene er funnet i bein og beinmarg (11). Etter en periode på 3 – 7 dager etter oral administrering var det igjen mindre enn 1 % av dosene i rottene. Eliminasjonen er bifasisk, med halveringstider på 2 – 7 timer og 69 – 337 timer (11). Ved intravenøs administrering av radioaktivt merket glyfosat ble 84-86 % av radioaktiviteten gjenfunnet i urinen og 1,5 – 3,4 % i avføring. Dette er som forventet ut fra glyfosats høye vannløselighet (11).

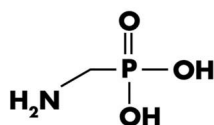
Det viktigste nedbrytningsproduktet av glyfosat i jord og vann er amin-metyl- fosfonsyre (AMPA). Metabolismeforsøk i rotter har vist at AMPA skilles ut raskt, og nesten fullstendig, via avføring (74 %) og urin (20 %), og mindre enn 0,1 % elimineres ved ekspirasjon. Etter 120 timer ble bare 0,06 % av total dose funnet igjen i dyret, og da i lever, nyre og muskel (11). I tillegg til glyfosat, vann og kommersielle løsninger, inneholder de glyfosatbaserte plantevernmidlene også surfaktantsystemer som gjør at herbicidet klebres til bladene og at middelet penetrerer effektivt inn i plantene. Det er flere som hevder at disse tilsetningsstoffene er giftigere enn glyfosat selv.

A



Glyphosate
(CAS RN 1071-83-6)

B



AMPA
(aminomethylphosphonic acid; CAS RN 1066-51-9)

1.2 Godkjenning av plantevernmidler i Norge og EU

Norge:

Godkjenningen av plantevernmidler i Norge foretas av Mattilsynet. Mattilsynet klassifiserer plantevernmiddelet inn i fareklasser etter hvor toksisk det er: Xn, T og T+, der T+ er meget giftig. Vitenskapskomiteen for mattrygghet (VKM) gjør på bestilling fra Mattilsynet en risikovurdering av det aktuelle preparatet. På bakgrunn av denne risikovurderingen avgjør Mattilsynet om preparatet kan godkjennes. Betingelsene for godkjenning er at preparatet ikke har uakseptable skadevirkninger overfor mennesker, husdyr, dyre- og planteliv, biologisk mangfold og miljøet for øvrig (12).

Mattilsynet fungerer som kontrollorgan for plantevernmiddelrester i næringsmidler. Årlig utfører de en offentlig kontroll for å overvåke nivået for rester av plantevernmidler og for å sikre at forbrukere ikke utsettes for plantevernmiddelrester som kan være helseskadelige. I 2013 ble det foretatt 1388 analyser av næringsmidler. Av disse var 66 % importerte og 34 % norskproduserte næringsmidler. Det ble påvist rester av totalt 169 ulike plantevernmidler i 2013 (13), og det ble påvist plantevernmidler over grenseverdi i 22 (1,6 %) av samtlige prøver som ble analysert. De aller fleste prøvene (19 av 22) var tatt fra importerte næringsmidler fra land utenfor EU (13).

EU:

Selskaper som produserer et plantevernmiddel som de ønsker å selge i Europa, må søke om godkjenning. Dette gjøres til «Rapporteur member state» (RMS) som utnevnes av EU-kommisjonen. For glyfosat er Tyskland rapporterende medlemsstat, det er da deres oppgave å foreta en uavhengig, objektiv og transparent vurdering av søknaden. Dette gjøres av «Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit» (BVL). Deretter utarbeider de en rapport (draft assessment report, DAR) som sendes til «European Food Safety Authority» (EFSA). Rapporten sendes så videre til alle medlemsland og til søkeren. En slik vurdering skal foretas minst hvert 10. år (14). Siste godkjenning for glyfosat ble gjort i 2002 (15).

1.3 Grenseverdier i Norge og EU

Det norske regelverket er i tråd med regelverket i EU, dermed er det de samme grenseverdier for ulike vareslag og plantevernmidler i Norge og EU(13).

En grenseverdi (Maximum residue level = MRL) er det høyeste nivået av et plantevernmiddel som er tillat i mat og dyrefor. Det settes ulike grenseverdier for ulike produkter og for ulike plantevernmidler, som betyr at det kan være ulike grenseverdier eksempelvis for to forskjellige typer salat. Grenseverdiene som settes vedtas av EUs stående komité for plantevernmiddelrester («Standing Committee of the Food Chain and Animal Health, pesticide residues») og er igjen basert på EUs mattrygghetsorgans (EFSA, «European Food safety Authority») vurderinger. I tillegg utføres det inntaksberegninger der foreslåtte grenseverdier for ulike matvarer sees i sammenheng med forbruksdata. Forskjellige produkter kan dermed få ulike verdier på grunn av ulikt konsum.

Tabell 1

Eksempler på grenseverdier satt for rester av glyfosat i planteprodukter:

| Eksempler på enkeltprodukter i gruppen | Grenseverdier mg/kg |
|--|----------------------------|
| Sopp (viltvoksende) kantarell, trøffel, morell | 50 |
| Sopp dyrket | 0,1 |
| Bønner | 2 |
| Erter, linser | 10 |
| Solsikkefrø og soyabønner | 20 |
| Bygg, durra, havre | 20 |
| hvete og rug | 10 |
| Sukkerbeter | 15 |

Høyeste nivå som ble påvist i 2013 var 8 mg/kg i bygg.

ADI = Akseptabel daglig inntak. Det er den mengden av et stoff som en person kan innta hver dag gjennom hele livet uten fare for helserisiko. ADI oppgis i milligram/kilo kroppsvekt/ dag (13).

ARfD = Akutt referansedose. Dette er en beregnet akutt referansedose for mennesker. ARfD er lik den høyeste mengden av ett stoff i mg/kg kroppsvekt som en konsument kan innta under en begrenset tidsperiode (normalt ett måltid eller opp til ett døgn) uten helserisiko (13).

Innholdet av et plantevernmiddel og dets relevante nedbrytningsprodukter sammenlignes med fastsatte verdier for helse, nemlig ADI – verdier og ARfD – verdier.

«No observed effect level» (NOAEL), er det høyeste eksponeringen for et stoff som ikke gir symptomer på den effekten man ser etter. Denne verdien er basert på dyreforsøk, og brukes i fastsettelse av ADI og ARfD. NOAEL ble i 2002 satt til 300 mg/kg kroppsvekt for glyfosat (13).

1.4 Potensielle måter å bli eksponert for glyfosat hos mennesker:

Potensielle måter å bli eksponert for plantevernmiddelet er gjennom inhalering, eksponering direkte på huden eller i øynene ved håndtering av sprøytemiddelet og ved sprøyting, eventuelt berøring av sprøytede planter. Andre muligheter er å få det i seg gjennom mat- og væskeinntak.

I en studie gjennomført av «Medizinisches Labor Bremen» i Tyskland, på oppdrag fra den tyske miljøorganisasjonen BUND og Europaavdelingen til den internasjonale paraplyorganisasjonen «Friends of the Earth» fant man at 43,3% av de undersøkte hadde glyfosat i urinen (16). Undersøkelsen ble gjort i 18 europeiske land, og 182 urinprøver ble analysert. Utvelgelsen av forsøkspersoner er ikke beskrevet. På Malta inneholdt over 90 % av de undersøkte prøvene glyfosat, mens Makedonia og Bulgaria hadde lavest forekomst på 10 %. Hos briter, tyskere og polakker ble det påvist glyfosat i 70 % av urinprøvene (23). Gjennomsnittlig konsentrasjon for alle prøvene i urinen var på 0,21 µg/l, mens høyeste

gjennomsnittlige konsentrasjon ble funnet hos Latviere med en konsentrasjon på 1,82 µg/l (16).

2.1 Metodevalg

I denne oppgaven ønsker jeg å se hvilken forskning som ligger bak kritikken som rettes mot bruken av glyfosat baserte plantevernmidler og forsøke å danne meg et bilde av kvaliteten på disse studiene. Samtidig ønsker jeg se på forskningen som ligger til grunn for godkjenningen av preparatet, og som da også ergrunnlaget for å kunne hevde at glyfosat er et ufarlig og meget veldokumentert plantevernmiddel (1). Oppgaven er dermed en litteraturstudie.

En litteraturstudie er en systematisk oversikt som vurderer og oppsummerer primærstudier ved hjelp av en tydelig beskrevet fremgangsmåte. En slik studie vil ikke skape ny kunnskap på feltet, men ved å systematisere kunnskap vil man kunne komme til nye erkjennelser og se problemet i nytt lys.

Valg av litteraturstudie som metode har flere årsaker. Dette er en effektiv måte å få en helhetlig oversikt over allerede eksisterende og relevant kunnskap, sist men ikke minst var det denne muligheten jeg hadde til å fordype meg i et tema jeg finner interessant.

2.2 Litteraturinnsamling

I denne oppgaven er det primære fokus mulige negative effekter av glyfosatbaserte plantevernmidler på fosterutviklingen hos mennesker. Det naturlige ville være å legge størst vekt på epidemiologiske studier. Fordi det finnes svært få epidemiologiske studier på dette emnet, og fordi det i slike studier ville være svært vanskelig å vise noen direkte sammenheng mellom eksponering og negative effekter på fosterutvikling, har jeg valgt å fokusere på eksperimentelle studier. Disse har jeg gruppert inn i in vitro og in vivo studier.

2.3 Søk

Eksklusjon og inklusjonskriterier:

Jeg har valgt å begrense søket til studier som er publisert etter 2002. Dette for å begrense omfanget av oppgaven og fordi den forrige vurderingen av studier ble foretatt i 2002 av BVL. Jeg har valgt å inkludere studier som eksplisitt omhandler glyfosats teratogenisitet og indusering av utviklingsanomalier.

Jeg startet med et søk i Pubmed med søkeordene: Glyphosate-based herbicide AND health effects. Dette gav 32 treff.

Søke detaljer: ("glyphosate"[Supplementary Concept] OR "glyphosate"[All Fields]) AND based[All Fields] AND ("herbicides"[Pharmacological Action] OR "herbicides"[MeSH Terms] OR "herbicides"[All Fields] OR "herbicide"[All Fields]) AND ("health"[MeSH Terms] OR "health"[All Fields]) AND effects[All Fields]

Av disse 32 studiene fant jeg 7 studier av interesse for min oppgave. De øvrige ble ekskludert på bakgrunn av at de omhandlet andre helseeffekter enn teratogenisitet.

Søket Glyphosate AND teratogenicity gav 3 treff ("teratogenesis"[MeSH Terms] OR "teratogenesis"[All Fields] OR "teratogenicity"[All Fields]) AND ("glyphosate"[Supplementary Concept] OR "glyphosate"[All]) Søket Roundup And teratogenicity gav 3 treff som er inkludert i funnet ved første søk nevnt over. Søket (Reproduction toxicology) AND glyphosate i Pubmed gav 5 treff, hvorav ingen oppfylte inklusjonskriteriene. I tillegg til disse søkene har jeg innhentet studier fra Pubmed og Google med bakgrunn i referanselistene i overnevnte studier.

3.1 Resultat

In vivo studier

Glyphosate – based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. Paganelli et al (2010), (4)

Roundup og dets aktive ingrediens Glyfosat førte til misdannelser i embryoene til den Sør-Afrikanske frosken *Xenopus laevis* og kyllinger. Løsninger på 1/5000 (ekvivalent til 430 mikroM glyfosat) av plantevernmiddelet induserte malformasjoner som mikrocefalon, syklopi, mikrooftalmi, kraniofaciale malformasjoner, forkortning av anteriore-posteriore akse på rumpetrollstadier. Sammenlignet med kontrollgruppen, viste de eksponerte embryoene en nedregulering i nevrallrørsmarkører. Samtidig så man ved eksponering for 1/5000 løsningen en reduksjon i ekspresjonen av Shh (et morfogen), pax6 (essensielt for formingen av øye) og sox9 (en transkripsjonsfaktor uttrykt i kraniale nevrallrørsceller).

Behandling av froskeembryoene: Det glyfosatbaserte plantevernmiddelet som ble brukt var Roundup classic. Eksponeringen for plantevernmiddelet ble gjort fra 2-cellestadiet hos froskeembryoene med GBH løsninger på 1/3000, 1/4000 og 1/5000 tilberedt i 0,1x Barth's saltoppløsning. Froskeembryoene fikk mikroinjeksjoner med 360 eller 500 pikogram (pg) av glyfosat.

Behandling av Kylling-embryoene: Etter å ha åpnet et lite vindu i eggeskallet, ble det injisert 20 µL av 1/3500 eller 1/4500 løsninger av Glyfosat basert herbicid. Kontrollgruppen fikk injeksjoner med 20 µL H₂O. Etter injisering ble hullet i skallet forseglet.

Embryoer som fikk injeksjoner av ren glyfosat viste tilsvarende utviklingsanomalier som hos de som fikk Roundup eksponering, noe som taler for at det er glyfosat selv og ikke tilsetningsstoffene i plantevernmiddelet som er ansvarlig for disse utviklingsanomaliene. Roundup eksponering gav lignende resultater hos kyllingembryoene. Ved hjelp av reporter gene assay fikk forskerne bekreftet at mekanismen bak de observerte teratogene effektene i *Xenopus* embryoene var via avbrudd i retinsyresignalerings. Dette resulterte i dysregulering av shh, slug, otx2 regulerende gener, som er helt nødvendige i utviklingen av sentralnervesystemet. Disse funnene er relevante for mennesker fordi retinsyresignalerings er sentral i embryonal utvikling også hos mennesker (17).

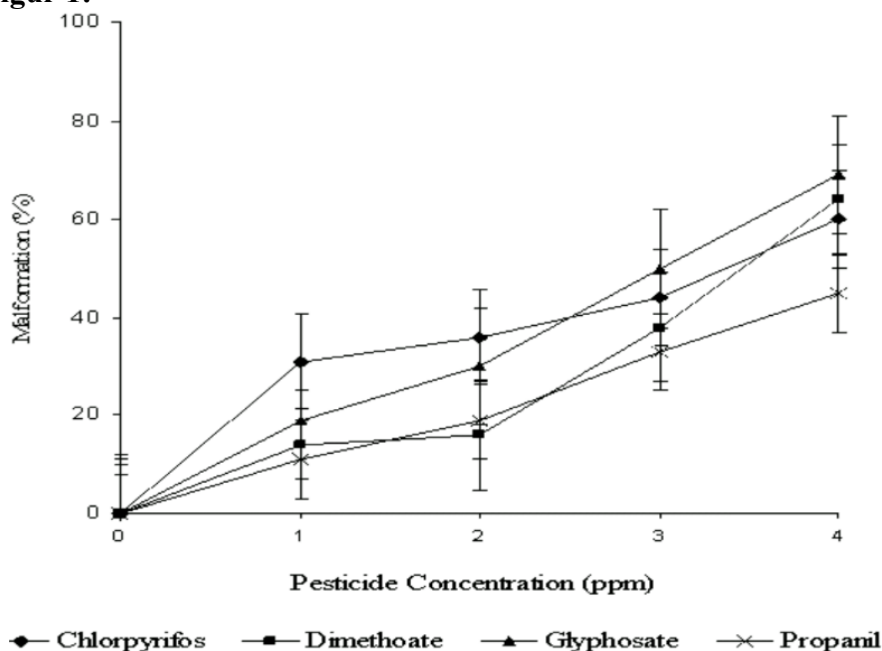
Toxicity of agrochemicals to common hourglass tree frog (polypedates cruciger) in acute and chronic exposure. Jayawardena et al (2010) (18):

Malformasjoner hos ca 60% av rumpetrollene av arten polypedates cruciger ble påvist ved behandling med en relevant konsentrasjon (1 parts pr million = 0,0001%) av Roundup. Utviklingsanomaliene var mest uttalte i ryggvirvelen, der man observerte tilstander som

kyfose og skoliose (18). I denne studien ble det gjort eksperimenter på fire ulike pesticider, en av dem glyfosat. Konsentrasjoner som ble brukt for glyfosat var 0,25, 0,50, 0,75 og 1,00 ppm. Eksponeringen ble gjort i 5 ulike glassbeholdere på 2 liter med de ulike løsningene, og en kontrollbeholder som kun inneholdt deklorifisert springvann. I beholderen med 1,0 ppm glyfosat ble det observert malformasjoner i 69 % av rumpetrollene.

Resultatene fra dette forsøket indikerer at kronisk eksponering for relevante konsentrasjoner av glyfosat påvirker overlevelse, vekst og utvikling til *P. Cruciger*. Analyser som ble gjort av vannprøver tatt fra vannkilder i nærheten av jordbruket, viste at vannet inneholdt opp til 10 ppm Roundup (upubliserede observasjoner). Vann fra disse kildene brukes som drikkevann av mennesker.

Figur 1:



Viser insidensen av malformasjoner observert ti dager etter klekking.
= kontroll, 1 = 0,25 ppm, 2 = 0,50 ppm, 3 = 0,75 ppm, og 4 = 1,0 ppm

Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. Romano et al. (2010) (19)

I denne studien settes det fokus på hvilken innvirkning glyfosat kan ha på pubertetsutviklingen, kroppsutviklingen generelt hos rotter, samt testosteron, østradiol og kortikosteroid-nivået i serum. Wistar rotter ble tilfeldig fordelt inn i fire behandlingsgrupper. Glyfosat- Roundup Transorb ble tynnet ut i vann og gitt til rottene en gang om dagen gjennom sonde. Kontrollgruppen ble behandlet tilsvarende som de øvrige gruppene, men fikk kun vann. Intervensjonsgruppene fikk 5, 50 og 250 mg/kg kroppsvekt glyfosat- Roundup Transorb. På postnatal dag 53 ble testiklene og binyrene veid og undersøkt makroskopisk og histologisk, og serumhormonmålinger ble gjort for testosteron, østradiol og kortikosteroid. Resultatene viser at herbicidet virker inn på pubertetsutviklingen til rottene. Rottene i intervensjonsgruppene fikk også redusert testosteronproduksjonen, og man så morfologiske endringer i epitelet i sædlederen til rottene. Det var også en signifikant økning i testikkel og binyre vekt hos dyrene behandlet med 250 mg/kg sammenlignet med kontrollgruppen. Man

så derimot ingen endring i serum østradiol eller kortikosteroid. Disse funnene peker mot at glyfosat virker forstyrende på hormonmetabolismen in vivo.

Tabell 2

| Grupper (antall) | Testosteron (ng/dl) |
|------------------|---------------------|
| Kontroll (17) | 154 +/- 12,9 |
| 5 mg/kg (16) | 108,6 +/- 19,6 |
| 50 mg/kg (18) | 84,5 +/- 12,2 |
| 250 mg/kg | 76,9 +/- 14,2 |

Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats.

Dallegrave et al. 2007 (20)

Målet med dette studiet var å vurdere effekten Roundup har på avkommene til Wistar Rotter. 60 primigravide rotter ble tilfeldig fordelt inn i 4 grupper, 15 stk i hver gruppe. Rottene ble eksponert oralt gjennom sonde med 50, 150 og 450 mg/kg glyfosat per dag under graviditeten (21 – 23 dager) og i perioden de ammet (21 dager). Eksponering gav ingen synlig toksisk virkning på de drektige hunrottene. Vurderingen av utviklingen til rotteavkommene ble gjort ved ukentlig veiing, og daglig evaluering av kjønnskarakteristika. Målingene gikk på pelsvekst, frembrudd av fortann, åpning av øyne, desendering av testis og løsning av forhud. Ved undersøkelse av de mannlige rotteavkommene fant man: redusert spermiproduksjon i voksen alder, økning i prosentandel av abnormale spermier, og dose relatert økning i testosteronnivået ved pubertet (20). Hos avkommene med hunkjønn, fant man kun en forsinkelse i åpningen av vaginal kanalen (20). Konklusjon: Pre- og postnatal eksponering for Roundup kan indusere uønskede skadevirkninger på reproduksjonsorganene hos hankjønn Wistar rotter (20).

The teratogenic potensial of the herbicide glyphosate- Roundup in Wistar rats,

Dallegrave et al 2003 (21)

Denne studien ble utført for å vurdere den teratogene effekten av Roundup på Wistar rotter. Seksti gravide rotter ble delt inn i 4 grupper, 15 stk i hver. En gruppe fikk destillert vann og de øvrige tre fikk henholdsvis 500, 750 eller 1000 mg/kg glyfosat (Roundup) tynnet ut i vann fra dag 6 – dag 15 i graviditeten. Denne perioden i graviditeten er kjent som en kritisk periode for den strukturelle utviklingen i embryologiske stadier hos rotter. Doseringen baserte seg på «no observed adverse effect level» (NOAEL) for utviklingsanomalier hos rotter, som var 1000 mg/kg glyfosat (Williams et al 2000), eksponering ble administrert oralt gjennom sonde 10 ml/kg. Keisersnitt ble utført på dag 21. Femti prosent av fostrene behandlet med 1000 mg/kg glyfosat døde mellom dag 7 og 14. Ingen døde ble observert ved lavere doser. Skjelettanomalier ble observert hos 15,4 % av avkommene i kontrollgruppen, 33,1 % i 500 mg/kg gruppen, 42,0 % i 750 mg/kg gruppen og 57,3 % i 1000 mg/kg glyfosatgruppen.

Induction of mortality and malformation in *scintax nasicus* tadpoles exposed to glyphosate formulations, Lajmanovich et al (2003) (22)

Lajmanovich et al fant at rumpetroll eksponert for glyfosatbasert herbicid forårsaker kraniofaciale og munndeformiteter, øyeabnormaliteter og endringer i konfigurasjonen til halen. I tillegg økt dødelighet. Malformasjonene og mortaliteten økte med dosen og eksponeringstiden med glyfosat. To dagers eksponering med 3,07 mg/l GBH forårsaket 10 % mortalitet og malformasjoner hos 55 % av dyrene. Konsentrasjonene som ble brukt i de ulike karene var 0, 3,07, 3,84, 4,8, 6 og 7,5 mg glyfosat/liter (22).

Figur 2: Prosent døde og prosentandel med malformasjoner.

| Days Exposure | GLY-F, mg/L | % mortality | % malformations ^a |
|---------------|-------------|-------------|------------------------------|
| 1 | 3.07 | 2 | 5 |
| | 3.84 | 20 | 55 |
| | 4.8 | 40 | 70 |
| | 6 | 92 | 70 |
| | 7.5 | 98 | 70 |
| 2 | 3.07 | 10 | 55 |
| | 3.84 | 75 | 70 |
| | 4.8 | 95 | 70 |
| | 6 | 98 | 70 |
| | 7.5 | 100 | 90 |
| 3 | 3.07 | 40 | 60 |
| | 3.84 | 80 | 75 |
| | 4.8 | 98 | 75 |
| | 6 | 99 | 75 |
| | 7.5 | 100 | - |
| 4 | 3.07 | 80 | 75 |
| | 3.84 | 98 | 90 |
| | 4.8 | 100 | 90 |
| | 6 | 100 | 90 |
| | 7.5 | 100 | - |

^a Includes both dead and alive

Tabell 3: Oversikt over gjennomgåtte in vivo studier

| Artikkel forfatter og årstall | Type studie | Dyr/ celler, eksponerings - metode | Doser brukt | Effekter funnet |
|--|------------------------|--|--|---|
| Paganelli et al. 2010 | In vivo | Sør Afrikanske froskeembryoer (Xenopus laevis) og Kyllinger, Mikroinjeksjoner. | 360 pg, 500 pg 20 µL H ₂ O, 20 µL av 1/3500 eller 1/4500 GBH (GBH = Roundup, 48 % Glyfosat) | Redusert ekspresjon av nevralrørsmarkører. Malformasjoner: mikrocefalon, syklopi, mikrooftalmi, kraniofaciale malformasjoner, forkortning av anteriore-posteriore akse på rumpetrollstadier |
| Jayawardena et al. 2010 | In vivo | Rumpetroll (Polypedates cruciger) Eksponering i vann. | 0 0,25 ppm 0,50 ppm 0,75 ppm 1,00 ppm (GBH = Roundup) | Redusert overlevelse, reduert lengdevest og vekt, samt økte malformasjoner i form av skoliose, kyfose og ødemer. |
| Romano et al 2009 | In vivo | Wistar rotter, sonde eksponering | 0, 5 mg/kg 50 mg/kg 250 mg/kg (GBH = Roundup, 480 g/l glyfosat) | Redusert testosteron- produksjon, forsinket pubertetsutvikling, morfologiske endringer i epitelet i sædlederne. |
| Dallegrave et al. 2007 | In vivo | Seksuelt modne han og hun Wistar Rotter, Sonde eksponering. | 0, 50 mg/kg 150 mg/kg 450 mg/kg (GBH = Roundup, 36% glyfosat) | Redusert spermie- produksjon, dose- respons reduisering i serum testosteronnivå. |
| Dallegrave et al. 2003 | In vivo | Seksuelt modne han- og hun-Wistar rotter, Sondeeksponering. | 0, 500 mg/kg 750 mg/kg 1000 mg/kg (GBH = Roundup, 36% glyfosat) | Skjellettanomalier. |
| Lajmanovich et al. 2003 | In vivo | Rumpetroll (s nasicus) eksponert for | 0, 3,07, 3,84, 4,8, 6 og 7,5 mg glyfosat/liter. (GBH = Glyfos, 48% glyfosat) | Utviklingsanomalier som kraniofaciale og munndeformiteter, øye- abnormaliteter, og hale forandringer var tilstede ved alle konsentrasjoner og økte med tid og glyfosat- konsentrasjon. |

In vitro studier:

Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines Gasnier et al. 2009 (23)

I dette studiet blir humane leverceller (HepG2) eksponert for fire ulike løsninger av glyfosat. Cytotoksisitet og gentoksisitet ble målt, anti-østrogen og anti-androgen effekter ble vurdert ved hjelp av genrapporteringstester. Det ble også testet for androgen og østrogen kommunikasjon gjennom aromataseaktivitet og mRNA-aktivitet.

Denne studien viser at fire ulike glyfosatbaserte plantevernmidler har toksisk virkning på levercellen HepG2, i mye lavere doser enn tidligere antatt. De første toksiske effektene ble observert ved 5 ppm, noe som er langt lavere enn det som er godkjent i noen matvarer i USA (400 ppm, US EPA, 1998). Studien bekrefter at tilsetningsstoffene i plantevernmidlene er mer toksiske enn glyfosat selv. Det ble observert en hemming av aromataseaktiviteten, noe som gir nedsatt fertilitet hos hunnamfibier. Lignende hypoteser har blitt foreslått hos mennesker.

Differential effect of glyphosate and Roundup on Human Placental cells and aromatase (Seralini et al. 2005) ()

Anbefalt dosering av Roundup er 1-2 % i vann, dette ble testet på placenta JEG 3 celler, ved å observere cellenes levedyktighet. Det ble brukt konsentrasjoner opp til 2 % med eksponering i 18, 24, og 48 timer. I denne studien finner man at glyfosatbasert herbicid (Roundup) er toksisk for humane placentaceller (JEG3), ved eksponering over 18 timer med konsentrasjoner som er lavere enn de brukt i jordbruket. De toksiske effektene øker med økt konsentrasjon og tid for eksponering. Roundup er mer toksisk enn sin aktive ingrediens (glyfosat), den median dødelige dosen (LD_{50}) var 1,8 ganger lavere for Roundup sammenlignet med Glyfosat alene. Studien viser også at Roundup virker hemmende på aromataseaktiviteten hos pattedyr. Aromatase er et enzym som er ansvarlig for et nøkkelsteg i biosyntesen av østrogen. Disse resultatene fremkom ved konsentrasjoner 100 ganger lavere enn det som er anbefalt i jordbruket (24).

4 Diskusjon

I dette litteraturstudiet har jeg sett på åtte studier fra 2003 og til i dag, to in vitro studier og seks in vivo studier, som alle på hver sin måte viser at glyfosat har negativ innvirkning på fosterutvikling. Det som er den umiddelbare innvendingen mot disse studiene er at effektene fremkommer ved nokså høye konsentrasjoner og med en direkte eksponering som er vanskelig overførbart til mennesker.

I undersøkelsen nevnt under punkt 1.4 (potensielle eksponeringsveier hos mennesker) ser vi at høyeste konsentrasjon av glyfosat som ble funnet i urin var på 1,82 µg/l (16). Dette er en forsvinnende liten konsentrasjon. Hvor mye som er fordelt ut i kroppsvevet, sammenlignet med mengden som skilles ut i urinen, kan si noe om den toksisk effekten. Som nevnt i innledningen viser forsøk gjort på rotter at glyfosat nokså raskt skilles ut av kroppen og akkumuleres i liten grad, med en bifasisk halveringstid på 2- 7 timer og 69 – 337 timer (11). Etter oral administrering var det mindre enn 1 % av dosene igjen i rodden etter 3 – 7 dager (11). Konsentrasjonen brukt i de gjennomgåtte studiene utenom konsentrasjonen brukt i Paganelli et al sin studie, er flere tusen ganger høyere enn 1,82 µg/l. Resultatene fra overnevnte rapport (11) peker mot at konsentrasjonen humane celler vil bli utsatt for er meget lave, og det er vanskelig ut i fra disse resultatene å tenke seg at glyfosat kan ha toksisk effekt.

Tabell 4:

Tabellen er hentet fra artikkelen Teratogenic Effects of glyphosate – Based herbicides: Divergence of Regulatory decisions from scientific evidence (25), og viser malformasjoner som ble funnet i studier på glyfosat sponset av industrien. Disse er summert opp av BVL. Forfatterne hevder at flere av utviklingsdefektene er konsistente med beskrivelser av retinsyreinduserte hjertemalformasjoner (25). Abnormalitetene er omtalt som karakteristiske for retinsyreindusert teratogenisitet i rapporten av Lammer et al., Kessel et al., og Huang et al.

| Studie forfatter og årstall | Innsender selvskap | Dyr/ eksponering | Doser brukt Mg/kg kroppsvekt/ dag | Effekter funnet | Doserelaterte effekter /statistisk signifikant |
|------------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------------|--|--|
| Suresh, 1993 | Feinchemie | Kanin/ sonde | 0, 20, 100, 500 | Dilatert hjerte. Uspesifisert | Lineært dose – respons forhold/ Signifikant forhøyet ved alle doser. |
| | | | | større viscerale malformasjoner | Lineært dose – respons forhold Økt forekomst i alle eksponerte grupper/ |
| | | | | Ekstra ribbein (13) | Lineært dose – respons forhold signifikant økning ved høyeste dose |
| Broker et al. 1991 | Monsanto/ Cheminova | Kaniner/ sonde | 0, 50, 100, 450 | Hjerte malformasjoner (eneste spesifisert er interventrikulær septumdefekt). | Effekt funnet ved høyeste dose |
| | | | | Embryonal død | Signifikant ved alle doser, men ikke klart dose–respons forhold. |
| Bhide and Patil, 1998 | Barclay/ luxan | Kaniner/ ukjent eksponering | 0, 125, 250, 500 | Hjerte- malformasjoner | Lineært dose-respons forhold. Ingen statistisk analyse utført av forfatterne. |
| | | | | (ventrikel-septum defekt) | Lineært dose-respons forhold Økt forekomst av hjertemalformasjoner funnet i alle eksponerte grupper. |
| | | | | Manglende nyrer | Lineært dose-respons forhold Doseavhengig økning i alle grupper |
| | | | | Rudimentær 14 ribbein unilateralt | Doseavhengig økning funnet i mellom- og høydose-gruppene. |

| | | | | | |
|--------------------------------|---------------------|--|-----------------------------|---|--|
| Tasker et al 1980 | Monsanto/cheminova | Kaniner/ sonde Antall kaniner pr gruppe: 16 eller 17 | 0, 75, 175, 350 | Økt antall dødsfall | Lineært dose-respons forhold. 1, 2 og 10 dødsfall i henholdsvis lav, middel og høydose-gruppene. 75 mg/kg satt til å være NOAEL av BVL |
| Anon et al. 1981 | Alkaloida | Rotter og kaniner/ oral eksponering. | 0, 10.5, 50.7, 255.3 | Økt antall føtale dødsfall | Effektene sett i de to øverste dosenivåene. |
| Zhu et al. 1984 | Barclay | Muse/ sonde | 80, 420, 1050 | BVL kommenterte at det er ingen bevis for dose – respons relatert toksisk effekt, men at beksrivelsen av forsøket var for dårlig. | Ingen data |
| Brooker et al 1991 | Monsanto/Cheminova | Rotter/sonde | 0, 300, 1000, 3500 | Redusert ossifisering i en eller flere kranielle deler | Doseavhengig økning ble funnet i midtre og øvre dosegruppe. |
| | | | | Uossifisert sternum | Økning funnet i alle gupper, statistisk signifikant ved høyeste dosegruppe. |
| | | | | Skjelett-variasjoner | Doseavhengig økning funnet i alle gupper, statistisk signifikant i midtre og høydosegrupper |
| Tasker and Rodwell 1980 | Monsanto /Cheminova | Rotter/ sonde | 0, 300, 1000, 3500 | Uossifisert sternum | Økning funnet på høyeste dose nivå |
| | | | | Uspesifiserte malformasjoner | Økning funnet på høyeste dosenivå |
| | | | | Antall levedyktige fostere pr liter og gjennomsnittlig føtal vekt redusert. | Effekt ble funnet ved høyeste dosegruppe. |
| Suresh, 1991 | Feinchemie | Rotter/ sonde | 0, 1000 | Økning i forsinket ossifisering (caudale delen av ryggsoylen, proksimalt i forbeina og bakbeina og distalt i falangene) | |

I kritikken mot Paganelli et al studien, peker forfatterne av studiene fra produsentene Monsanto/Dow/Syngenta på at de ikke har fulgt GLP (Good Laboratory Practice) (26), innvendelsen mot dette igjen er at GLP heller ikke er fulgt i forskningen som industrien lener seg på (25). Williams et al legger i sin kritikk vekt på at glyfosatløsningene som ble injisert ikke var pH-justerte, noe de mener setter spørsmålstegn ved relevansen til eksponering av glyfosat i naturlige omgivelser (26).

Etter Paganelli et al sine funn i 2010 fikk Tyskland i oppdrag av daværende EU kommissær for helse og mattrygghet og gjøre en vurdering av Paganelli sin artikkel. I oktober 2010 sendte Tysklands offentlige kontor for forbrukerbeskyttelse og mattrygghet (BVL) en vurdering av studien der de kommer med følgende innsigelser: Eksponeringen av glyfosat på frosken (*Xenopus laevis*) og kyllingembryoer er gjort under særdeles kunstige forhold. De sikter da til mikroinjeksjonene (i likhet med Williams et al) av glyfosat dyrene ble utsatt for, og at dette er lite overførbart til pattedyr (26). Videre påpeker de på at det er en stor og pålitelig database for utviklingsanomalier ved eksponering for glyfosat og ingen bevis for at det har teratogen effekt (26). Studier gjort på rotter og kaniner klarte ikke påvise kraniofaciale malformasjoner som man burde forvente dersom de ble utsatt for et stoff som påvirker nevralrøret (27). Kritikere peker her på at BVL ikke gjør rede for hva de sikter til når de hevder å ha en stor og pålitelig database med studier som motbeviser dette (25). Videre viser de til at studiene BVL summerer opp (se tabell 4) er studier designet av produsentene av glyfosat- baserte plantevernmidler - majoriteten av disse studiene er heller ikke publisert (25). Basert på BVLs rapport fra 2002 ble det ikke gjort noen videre vurdering av glyfosats mulige teratogene virkning. I stedet ble godkjenningen av glyfosat som etter reglene skulle tas opp igjen i 2012 utsatt til 2015. Begrunnelsen for dette fra EFSA var at de hadde for store arbeidsmengder for å revurdere glyfosat (25).

For å teste BVLs påstand om at GBH ikke har teratogen effekt, har forskere gått igjennom deres rapport fra 1998 (25). De industrielle toksikologiske dataene som er summert opp i rapporten er ikke tilgjengelig for offentligheten, de er erklært kommersielt konfidensielle av Monsanto som er største produsent av Glyfosatbaserte herbicid i verden.

I analysen av denne rapporten finner man at glyfosat har teratogen effekt, riktig nok ved høyere konsentrasjoner (28) se tabell 4. Først har BVL skrevet at "Glyphosate does not cause teratogenicity" for så å tilføye at man ved høyere konsentrasjoner av glyfosat ser redusert ossifisering og høyere insidens av skjelettanomalier og/ eller anomalier i indre organer (28). Videre hevder kritikerne at skjelettanomalien som ble funnet i disse tidlige studiene er konsistente med funnene til Paganelli et al (4). I tillegg skriver de at glyfosat gitt i høyere konsentrasjoner til rotter og kaniner reduserer antall levedyktige fostre. Redusert antall levedyktige fostre er forbundet med økt insidens av malformasjoner, fordi disse fostrene spontanaborteres (28).

Dallegrave et al (2007) fant en forsinkelse i åpningen av vaginalkanalen hos hunrottene (20). Dette var ikke doseavhengig, og er i følge Williams et al innenfor normalområdet av hva man kan forvente fysiologisk av rottene og i tråd med historiske data (26). Hannrotteavkommene i pubertal fase viste en statistisk økt prosentandel av abnormale spermier, dette funnet ble gjort hos rottene i lavdosegruppen, men ikke i medium- og høydosegruppen, noe kritikerne mener gjør det til et tilfeldig funn (26). Den doserelaterte økningen i serum testosteronnivå som ble påvist i høydosegruppen var signifikant forskjellig fra kontrollgruppen (20). Williams et al peker her på at dette resultatet er det motsatte av hva man ville forvente å finne dersom tidlig separasjon av forhud var et sant funn (26). Videre innvendes det at de høye testosteronkonsentrasjonene ikke vedvarte i voksen alder (26). I voksen alder ble det funnet

at spermieproduksjonen var signifikant redusert ved lav- og høydose eksponering, men ikke i mediumdose-gruppene sammenlignet med kontrollgruppen, noe som kan tyde på at det er et tilfeldig funn (26).

Williams et al oppsummerer kritikken mot Dallegrave et al og Romano et al sammen med 3 andre tidligere studier, med å hevde at disse studiene lider av utilstrekkelighet i design og rapportering (26). Videre lister de opp at flere av disse studiene: 1) Brukte kommersielle glyfosatbaserte herbicider i stedet for å bruke ren glyfosat, noe som gjør det vanskelig å vite om det er tilsetningsstoffer i herbicidet som gir effektene eller glyfosat i seg selv. 2) Har brukt utilstrekkelig antall dyr per behandlingsgruppe. 3) Ikke tydelig nok har gjort rede for konsentrasjoner og konsentrasjonsrater (26). Videre peker de på at det ikke ble funnet noen doserelaterte trender i effekt.

For meg som medisinstudent å skulle vurdere styrken på de ulike studiene jeg har gjennomgått her, finner jeg krevende. Riktige prosedyrer for behandling av dyr i forskning, deres normale fysiologi og utvikling, god laboratoriepraksis og vurdering av tekniske metoder for avlesning av resultater er langt over mitt kompetansefelt. Alle studiene viser at glyfosat er en innvirkende faktor på fosterutvikling, men at man kan stille spørsmålsteget ved studiedesign og relevansen disse funnene har for mennesker er det ikke tvil om. Studiene presentert her har alle en god beskrivelse av studiedesign, hvordan dyrene ble behandlet, hvilke kjemikalier som ble brukt og hvordan forsøket og eksponeringen ble gjennomført og på den måten også tilgjengelig for kritikk av eksperter. Etter min vurdering trengs det mer uavhengig forskning på dette herbicidet, og fortsatt forsiktighet og etterlevelse av føre-var prinsippet fremover.

Mange stiller spørsmål til sumvirkningen av alle kjemiske stoffer vi blir utsatt for i vår hverdag, den såkalte «cocktail-effekten». I kritikken som rettes mot flere av studiene jeg har tatt med i denne oppgaven er det nettopp det at man vanskelig kan vite om det er glyfosat i seg selv eller tilsetningsstoffene i produktet eller kombinasjonen av disse som gir de eksponerte dyrene utviklings anomalier. Dette er et område vi trenger mer kunnskap om, og det foregår forskning i EU på dette området. Dette tatt i betraktning, og uenigheten forskere i mellom, sammen med viten om at plantevernmidler som glyfosat har blitt godkjent til bruk på bakgrunn av forskning gjort av selskaper med økonomiske interesser gjør at man bør strebe etter og fortsette den restriktive og kritiske vurdering av slike stoffer i Norge.

5. Litteraturliste

1. Mattilsynet, fakta om glyfosat.
http://www.mattilsynet.no/planter_og_dyrking/plantevernmidler/godkjenning_av_plantevernmidler/fakta_om_glyfosat.3100/binary/Fakta%20om%20glyfosa
2. M. Cuhra, T. Traavik, T. Bøhn: Clone- and age-dependent toxicity of a glyphosate commercial formulation and its active ingredient in *Daphnia magna*. *Ecotoxicology*. 2013 Mar;22(2):251-62. doi: 10.1007/s10646-012-1021-1. Epub 2012 Dec 6.
3. Curtis D . Klassen. Cassaret & Doulls Toxicology, The basic Science of Poisons, 8 th edition, Mc Graw Hill Education Medical. 2013. S 1454
4. Paganelli A, Gnazzo V, Acosta H, Lopez SL, Carrasco AE: Glyphosate – based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling. *Chem Res Toxicol*. 2010 Oct 18;23(10):1586-95.
5. Benachour N, Shipahutar H, Moslemi S, Gasnier C, Travert C, Séralini G. E: Time- and dose – dependent effects of Roundup on human embryonic and placental cells *Arch Environ Contam Toxicol*. 2007 Jul;53(1):126-33. Epub 2007 May 4.
6. Jayasumana C¹, Gunatilake S², Senanayake P³: Glyphosate, hard water and nephrotoxic metals: are they the culprits behind the epidemic of chronic kidney disease of unknown etiology in Sri Lanka? *Int J Environ Res Public Health*. 2014 Feb 20;11(2):2125-47
7. Marc J, Breton ML, Cormier P, Morales J, Bellé R, Mulner-Lorillon O: A glyphosate – based pesticide impinges on transcription. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2005 Feb 15;203(1):1-8.
8. Oikos:
<http://www.oikos.no/newsread/page.aspx?docid=13440>
9. GMO Compass.
http://www.gmo-compass.org/eng/grocery_shopping/crops/19.genetically_modified_soybean.html
10. Food and Agriculture Organization of the United Nations:
<http://www.fao.org/docrep/009/a0209e/a0209e0d.htm>
11. Toksikologisk vurdering av glyfosat, mattilsynet 08.06 2004.
12. Mattilsynet, godkjenning av plantevernmidler i Norge:
http://www.mattilsynet.no/planter_og_dyrking/plantevernmidler/godkjenning_av_plantevernmidler/godkjenning_av_plantevernmidler_i_norge.4036/binary/Godkjenning%20av%20plantevernmidler%20i%20Norge
13. Mattilsynet, rester av plantevernmidler i næringsmidler 2013:
http://www.mattilsynet.no/mat_og_vann/uonskede_stofferimaten/rester_av_plantevernmidler_i_mat/rester_av_plantevernmidler_i_naeringsmidler_2013.14595/binary/Rest%20av%20plantevernmidler%20i%20n%C3%A6ringsmidler%202013
14. Glyphosate information portal:
www.glyphosate.eu/system/files/sidebox-files/renewal_process_for_glyphosate_faqs.pdf
15. European Commission Health & consumer protection Directorate-General (2002) Review report for the active substance glyphosate:
http://ec.europa.eu/food/plant/protection/evaluation/existactive/list1_glyphosate_en.pdf
16. Gemeinschaft für Laboratoriumsmedizin, Microbiologie, Infektions epidemiologie, Biochemie, Umweltmedizin:

https://www.bund.net/fileadmin/bundnet/pdfs/gentechnik/130612_gentechnik_bund_glyphosat_urin_analyse

17. M. Antoniou, MEM Habib, CV. Howard, RC. Jennings, C. Leifert, RO. Nodari, CJ Robinson, J. Fagan: Teratogenic effects of glyphosate – based herbicides: Divergence of regulatory decisions from scientific evidence. *Environmental & Analytical Toxicology* 2012, s 4.
18. Jayawadena UA, Rajakaruna RS, Navaratne AN, Amerashinghe PH: Toxicity of agrochemicals to common hourglass tree frog (polypedates cruciger) in acute and chronic exposure *INTERNATIONAL JOURNAL OF AGRICULTURE & BIOLOGY* ISSN Print: 1560–8530; ISSN Online: 1814–9596 10–209/SAE/2010/12–5–641–648
19. Romano RM, Romano MA, Bernardi MM, Furtado PV, Oliveira CA: Prepubertal exposure to commercial formulation of the herbicide glyphosate alters testosterone levels and testicular morphology. *Arch Toxicol* (2010) 84:309 - 317
20. Dallegrave E, Mantese FD, Oliveira RT, Anderson J, Andrade M, Dalsenter PR, Augusto L, Pre- and postnatal toxicity of the commercial glyphosate formulation in Wistar rats. *Arch Toxicol* (2007) 81: 665- 673
21. Dallegrave E, Mantese FD, Coelho RS, Pereira JD, Dalsenter PR, Langeloh A, The teratogenic potential of the herbicide glyphosate – Roundup in Wistar rats. *Toxicology Letters* 142 (2003) 45 - 52
22. RC Lajmanovich, MT Sandoval, PM Peltzer, Induction of mortality and malformation in scinax nasicus tadpoles exposed to glyfosate formulations. *Bull Environ. Contam. Toxicol.* (2003) 70:612 – 618. Springer verlag New York.
23. [Gasnier C¹](#), [Dumont C](#), [Benachour N](#), [Clair E](#), [Chagnon MC](#), [Séralini GE](#): Glyphosate-based herbicides are toxic and endocrine disruptors in human cell lines. [Toxicology](#). 2009 Aug 21;262(3):184-91. doi: 10.1016/j.tox.2009.06.006. Epub 2009 Jun 17.
24. S Richard, S Moslemi, H Siphutar, N Benachour, GE Seralini, Differential effects of Glyphosate and Roundup on human placental cells and aromatase. *Environmental Health Perspectives* volum 113, N 6. 2005
25. M. Antoniou, MEM Habib, CV. Howard, RC. Jennings, C. Leifert, RO. Nodari, CJ Robinson, J. Fagan: Teratogenic effects of glyphosate – based herbicides: Divergens of regulatory decisions from scientific evidence. *Environmental & Analytical Toxicology* (2012) s:4
26. Williams AL, Watson RE, DeSesso JM (2012): Developmental and reproductive outcomes in humans and animals after glyphosate exposure: A critical analysis, *Journal of Toxicology and Environmental health, Part B: Critical Reviews*, 15:1, 39 – 96
27. Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit (BVL) (2010) Glyphosate – Comments from Germany on the paper by Paganelli, A. et al.: “Glyphosate-based herbicides produce teratogenic effects on vertebrates by impairing retinoic acid signaling”. Braunschweig, Germany.
28. Antoniou M, Habib M, Howard CV, Jennings RC, Leifert C, et al. (2011) Roundup and birth defects: Is the public being kept in the dark? *Earth Open Source*. 1-52.